# Untersuchungen über die Pankreaslipase

von

NIKOLAS CHAITOGLOU

aus Thessaloniki/Griechenland

1965 № 105

Aus der Medizinischen Klinik der Universität
Erlangen - Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

# Untersuchungen über die Pankreaslipase.

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN - NÜRNBERG

vorgelegt von
Nikolas C h a i t o g l o u
aus Thessaloniki / Griechenland

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Dekan: Prof. Dr. med. W.D. Keidel

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1965

Meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. N. Henning

danke ich für die Überlassung des Themas und die wertvollen Ratschläge während der Ausführung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Dr. med. H. Wüst für seine freundliche Unterstützung.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548828_0119

# INHALTSVERZEICHNIS


Seite

EINLEITUNG 1

METHODIK 2

1. Gewinnung des Darmsaftes.
2. Stimulation der Pankreassekretion und fraktioniertes Sammeln des Duodenalsaftes.
3. Bestimmung der Lipaseaktivität.

ERGEBNISSE 6

1. Enzymkinetische Untersuchungen der Pankreaslipase.
2. Aktivierung der Pankreaslipase.
3. Stabilität der Pankreaslipase.

DISKUSSION 14

ZUSAMMENFASSUNG 18

LITERATUR 19

Das Krankheitsbild der Verdauungsinsuffizienz ist ein klinischer Sammelbegriff, dem eine Vielzahl gastroenterologischer Krankheiten zu Grunde liegen können. Pathogenetisch besteht entweder eine primäre Störung der Resorption, meist verbunden mit morphologischen Veränderungen der Darmschleimhaut (z.B. Sprue) oder ein unvollkommener Aufschluß zugeführter Nahrungsbestandteile und hieraus sekundär resultierend eine insuffiziente Resorption.
Die klinischen Symptome sind Durchfälle, Meteorismus, Übelkeit, Erbrechen, Gewichtsabnahme und Mangelsymptome an zahlreichen Organen. Wir beobachten Verdauungsinsuffizienzen bei Krankheiten des Pankreas, wie Pankreatitis, Pankreascarcinom, Pankreasfibrose, bei atrophischer Gastritis, nach Magenresektionen und Gastrektomien (agastrische Dystrophie (7)), bei Magen- und Duodenalulcera, nach Darmresektionen, bei Darmfisteln und bei Galle- und Leberleiden.

Besonders frühzeitig ist bei den Kranken die Fettverdauung gestört. Erhöhte Fettwerte im Stuhl sind häufig Frühsymptom und bei fortgeschrittenen Fällen wird selten eine ausgeprägte Steatorrhoe vermißt.

Es ist naheliegend, hierfür die Lipasesekretion des Pankreas mitverantwortlich zu machen. Enzymuntersuchungen des Pankreassaftes haben auch gezeigt (13), daß in der Tat die Lipasebildung relativ frühzeitig gestört ist, meist vor Ausfall der eiweiß- und kohlenhydratspaltenden Enzyme.

Relativ wenig Aufmerksamkeit hat bei diesen Untersuchungen bisher die Lipasestabilität im Darm gefunden. Vereinzelt wurde darauf hingewiesen, daß innerhalb weniger Stunden die Lipase im Duodenalsaft inaktiv werden kann (13), ohne daß hierfür ausreichende Erklärungsmöglichkeiten bestehen.

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, einige der vielfältigen, aktivierenden und hemmenden Einflüsse auf das Ferment näher zu analysieren, um hierdurch Einblicke in Bedeutung und Ausmaß der Inaktivierung zu erhalten. Es wurden u.a. die Einwirkungen von pH, Temperatur, Pepsin und Albumin untersucht.

## M E T H O D I K

### 1. Gewinnung des Darmsaftes

Der Darmsaft wurde durch Duodenalsonde gewonnen. Eine röntgenkontrastgebende, einläufige Sonde wurde bis in den ascendierenden Schenkel des Duodenums eingeführt. Als Sonde fand ein Silikonkautschukschlauch, der am distalen Ende mit einem Stück Schaumgummi zum besseren Angriff der Peristaltik versehen war, Verwendung. Der abfließende Darmsaft wurde in eisgekühlten Kunststoff-Flaschen aufgefangen.

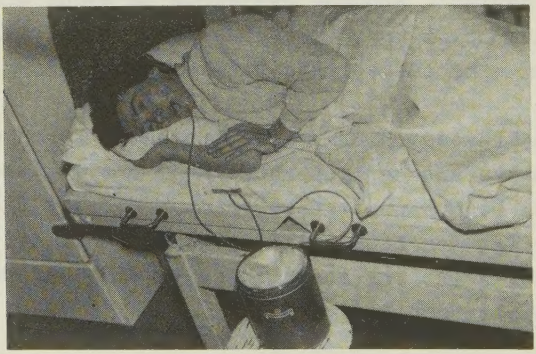


Abb. 1 : Duodenalsaftgewinnung mit einläufiger Sonde. Auffangen des Sekretes in eisgekühlten Behältern.

2. Stimulation der Pankreassekretion und fraktioniertes Sammeln des Duodenalsaftes.

Zur Anregung der Pankreassekretion fand der von SCHÖN, RÄSSLER und HENNING ( 12 ) angegebene Probetrunk mit 300 ml Fleischbrühe Verwendung und in gleicher Sitzung ein parenteraler Sekretin-Pankreocyminreiz. Benützt wurden Sekretin und Cecekin (= Pankreocymin) der Firma Vitrum Stockholm. Die Patienten erhielten intravenös nacheinander je 1 Biologische Einheit (Ivy Dog Units) Sekretin und Cecekin pro kg Körpergewicht.
Der abfließende Darmsaft wurde fraktioniert in folgenden Portionen gewonnen:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. | Nüchternsekretion<br>Basalsekretion | 30 min | A-Fraktion |
| 2. | Probetrunkreiz<br>300 ml Fleischbrühe | 60 min | B-Fraktion |
| | | 30 min | C-Fraktion |
| 3. | Sekretin-Cecekinreiz | 30 min | D-Fraktion |
| | | 30 min | E-Fraktion |

Um untereinander vergleichbare Bedingungen zu haben, wurde für die Aktivierungs- und Inaktivierungsversuche der Lipase die D-Fraktion, d.h. der Duodenalsaft nach Sekretin und Pankreocyminreiz verwendet.

3. Bestimmung der Lipaseaktivität (nach SCHÖN, RÄSSLER und HENNING ( 12 ) )

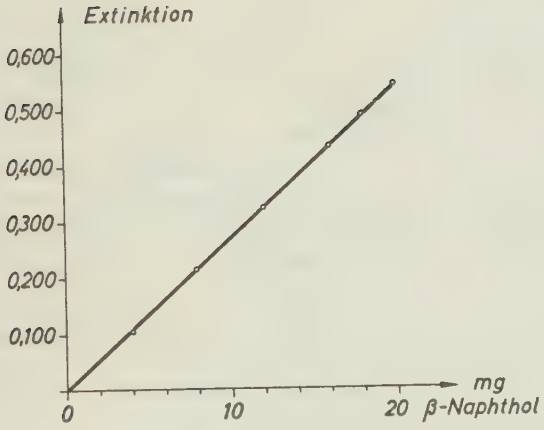
**Prinzip:**
Die Lipaseaktivität wurde photometrisch bestimmt ( 10,11 ).
Als Substrat fand Ölsäure-ß-Naphthylester Verwendung.
Durch Na-Cholatzusatz wurde das Ferment aktiviert.
Die Menge an freigesetztem ß-Naphthol ist Maß der Lipaseaktivität.

Reagenzien:

1. Trisoxymethylaminomethan/HCl-Puffer (0,05 m) pH 7,4 : 250 ml 0,2 m Trisoxymethylaminomethanlösung und 420 ml 0.1 n HCl mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen (pH kontrollieren).
2. Natriumcholat, 200 mg/ml in Aqua dest. (20%)
3. Substrat: Ölsäure-ß-Naphthylester, 5 mg/ml in Dimethylformamid (im Kühlschrank aufbewahrt etwa 1 Woche haltbar).
4. Farbreagenz: Tetrazotiertes Di-o-anisidin, Echtblausalz B (Merck), 4 mg/ml in Aqua dest. (frisch bereiten)
5. Perchlorsäure 5%ig
6. Essigsäureäthylester, säurefrei.

Ausführung:

Der frisch gewonnene, zentrifugierte Darmsaft wurde im Eisbad 1 : 1000 mit Aqua dest. verdünnt und 0,1-0,5 ml (je nach Aktivität) zur Bestimmung entnommen. Die Untersuchungsprobe wurde nach Zugabe von 0,5 ml Cholatlösung mit Trispuffer auf 5 ml ergänzt und mit 0,2 ml Substratlösung 30 Min. bei 37°C inkubiert. Wegen der Spontanhydrolyse des Naphthylolsats mußte gleichzeitig ein Substratleerwert mit 0,5 ml Cholatlösung, 4,5 ml Trispuffer und 0,2 ml Substratlösung angesetzt und in gleicher Weise inkubiert werden. Nach 30 Min. Zugabe von 1 ml Farbreagenz und nach genau 1 Min. 1 ml Perchlorsäure. Der gebildete Farbstoff wurde mit Eisessig ausgeschüttelt und die Esterschicht nach vorsichtigem Dekantieren mit getrocknetem Natriumsulfat versetzt. Die Extinktionen der Fermentreaktionslösung und des Substratleerwertes wurden bei 546 mμ (1 cm Schichtdicke) gegen Essigester gemessen.




ß-Naphtholeichkurve

Berechnung:
Aus einer ß-Naphtholeichkurve, die mit 0,1-1,0 ml einer methanolischen ß-Naphthollösung ( 50 g/ml ) in 5 ml Trispuffer, wie oben beschrieben,gewonnen wurde, ließ sich die Menge des freigesetzten ß-Naphthols ablesen. Nach Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors ( bei 0,2 ml der 1:1000-Verdünnung=5000 ) wurde die Gesamtaktivität im mg ß-Naphthol angegeben, das bei 37°C in 30 Min. aus 1 ml Naphthyloleat von 1 ml Darmsaft freigesetzt wurde. Bei den vergleichenden Untersuchungen sind die Ergebnisse teilweise in direkten Extinktionswerten, teilweise in Prozentwerten angegeben worden.

## E R G E B N I S S E

### Enzymkinetische Untersuchungen der Pankreaslipase

Enzymaktivitäten lassen sich nur unter der Voraussetzung linearer Beziehungen zwischen Substratumsatz und Zeit einerseits, sowie Substratumsatz und eingesetzten Enzymmengen andererseits vergleichen.
Es galt festzustellen, ob unter den gegebenen Versuchsbedingungen diese Voraussetzungen erfüllt sind. Abb. 2 zeigt, daß der Substratumsatz bei steigenden Inkubationszeiten bis zu 60 Min. linear ansteigt und nach Abb. 3 nimmt auch bis zu Extinktionswerten von 0,700 die Lipaseaktivität mit zunehmend eingesetzter Lipasemenge (Darmsaftmenge) linear zu.

Die Messung der Lipaseaktivität sollte möglichst im pH-Optimum erfolgen. Das pH-Optimum ist substratabhängig und wurde mit Tween 80 bei pH 6,6 (1), mit Tween 20 bei pH 7,0 (11) und mit Triolein bei pH 9,1 (3) gemessen. Neben den verschiedenen Substraten muß aber nach BORGSTRÖM ( 4 ) berücksichtigt werden, daß in Anwesenheit von Gallensäuren eine Verschiebung des pH-Optimums in den sauren Bereich erfolgt.
Die mit Na-Cholat aktivierte Lipase im Duodenalsekret hat unter unseren Versuchsbedingungen ihr pH-Optimum um pH 6,0. Im sauren Bereich tritt ein schneller Aktivitätsabfall ein, im alkalischen dagegen nur ein allmählicher. Selbst bei pH 9,0 war noch über 50% der Aktivität des Optimums nachweisbar. Wegen des breiten pH-Optimums nach der alkalischen Seite hin, wurden die meisten Untersuchungen entsprechend der Originalvorschrift bei pH 7,4 vorgenommen.

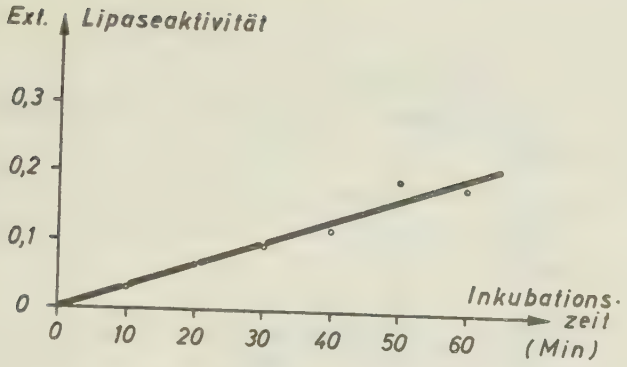



Abb. 2 : Relation Lipaseaktivität / Inkubationszeit.
Es bestehen lineare Beziehungen bis zu einer Inkubationszeit von einer Stunde.

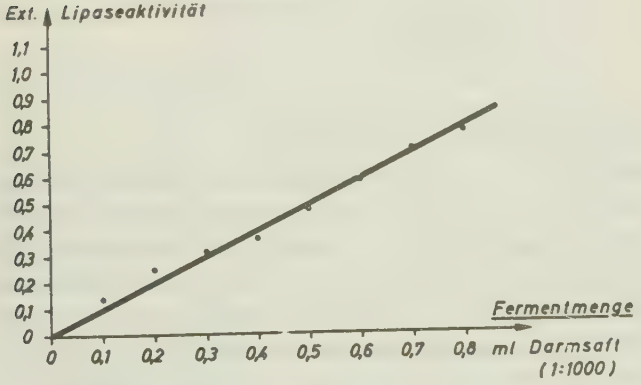



Abb. 3 : Relation Lipaseaktivität / Fermentmenge.
Im Extionsbereich bis 0,700 bestehen lineare Abhängigkeiten.

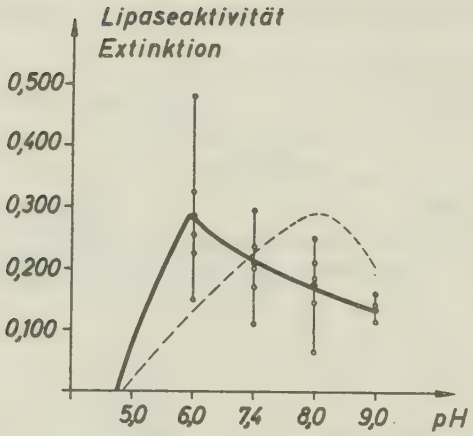



Abb. 4 : pH-Optimum der Pankreaslipase im Darmsaft.
•——• Verhalten in Anwesenheit von Gallensäuren
------ Verhalten in Abwesenheit von Gallensäuren
(nach BERGSTRÖM).

2. Aktivierung der Pankreaslipase

Im Gegensatz zu den unspezifischen Esterasen läßt sich die Pankreaslipase durch Gallensäuren aktivieren. (3,5,6) Die Aktivierung unter den eigenen Versuchsbedingungen erwies sich als konzentrationsabhängig vom zugesetzten Na-Cholat (Tabelle 1). Optimale Aktivierung fand sich bei Na-Cholatkonzentrationen zwischen 4 und 5,6 gr%, Konzentrationen über 6gr% hatten einen hemmenden Einfluß. Die Aktivitätssteigerung bei zunehmender Na-Cholatmenge verläuft nicht streng linear. Die Aktivitätskurve steigt bis zu Konzentrationen um 2 bis 4 gr% zunächst steil an, um dann zunehmend abzuflachen.

Tabelle 1

Aktivierung der Pankreaslipase des Duodenalsaftes durch Na-Cholat

Aktivitätsangabe in gemessenen Extinktionen.
Na-Cholat im Enzymansatz in gr% (Endansatzvolumen).

| Na-Cholat-Endkonzentration | Darmsaft 1 | Darmsaft 2 | Darmsaft 3 |
|---|---|---|---|
| 0,8 % | 0,060 | 0,095 | 0,195 |
| 1,6 % | 0,125 | 0,175 | 0,350 |
| 2,4 % | 0,155 | 0,240 | 0,410 |
| 3,2 % | 0,190 | 0,275 | 0,440 |
| 4,0 % | 0,215 | 0,290 | 0,510 |
| 4,8 % | 0,224 | 0,290 | 0,495 |
| 5,6 % | 0,250 | 0,340 | 0,485 |
| 6,4 % | 0,185 | 0,250 | 0,460 |

Die Gallensäureaktivierung kann durch Anwesenheit von Begleitstoffen beeinflußt werden. Es wurden Albumin, -Globulin und Periston untersucht. (Abb 5). Während der Albuminzusatz in Abwesenheit von Na-Cholat ohne erkennbaren Einfluß auf die Fermentaktivität blieb, steigerte Albumin in Anwesenheit von Cholat die Lipaseaktivität bis über 600 % der Ausgangswerte. Die Albuminaktivierung ist konzentrationsabhängig. Bereits mit relativ geringen Mengen (0,2 gr auf 5 ml Ansatz = $0{,}5 \times 10^{-4}$ mol), ließ sich eine über 200 %ige Aktivitätssteigerung nachweisen. Maximale Aktivierung wurde mit Albuminkonzentrationen von $5 \times 10^{-4}$ mol erreicht. Ein noch höherer Albuminzusatz blieb ohne Effekt.

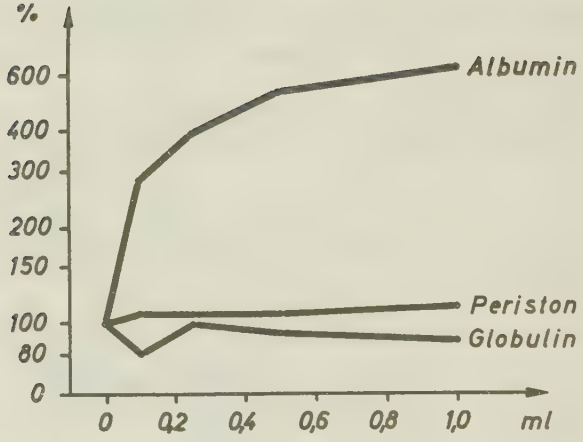



Abb. 5

Einfluß von Humanalbumin - Humangammaglobulin und Periston auf die Lipaseaktivität

Verwendet wurde in 5 ml Gesamtansatz eine 20%ige Humanalbuminlösung (Behringwerke), eine 16%ige Gammaglobulinlösung (Behringwerke) und Periston 4 %Lösung.

Im Gegensatz zum Albumin war γ- Globulin bis zu Konzentrationen von $10^{-4}$mol ohne Einfluß auf die Fermentaktivität. Auch der Zusatz relativ großmolekularen Peristons (Mol-Gewicht≈30000) beeinflußte die Lipaseaktivität nicht meßbar.

## 3. Stabilität der Pankreaslipase

Die Pankreaslipase hat sich als ein relativ labiles Enzym erwiesen. Die spontane Inaktivierung, d.h. der Aktivitätsverlust bei 4 °C im Kühlschrank und im physiologischen Temperaturbereich zeigte deutliche pH-Abhängigkeit (Abb.). Das Ferment ist im sauren Milieu (pH 3,6) deutlich stabiler als im schwach alkalischen (7,4)

Aber auch im sauren Stabilitätsoptimum ist es gegen Hitzeeinwirkung ungewöhnlich empfindlich (Tabelle 2). Bereits ab 42°C ließ sich bei pH 3,6 innerhalb von 30 Min. ein Aktivitätsverlust zwischen 20 und 70% nachweisen. Mit höheren Temperaturen nimmt die Inaktivierungsgeschwindigkeit rasch zu. Bei 52°C wird die Lipase innerhalb von 30 Min. völlig zerstört.

T a b e l l e 2

Wärmeinaktivierung der Pankreaslipase

| | Inkubationstemperatur | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 42°C | 47°C | 50°C | 52°C |
| Darmsaft 1 | 52 % | 49 % | 16 % | 1 % |
| Darmsaft 2 | 83 % | 68 % | 24 % | 1 % |
| Darmsaft 3 | 29 % | 16 % | 4 % | 0 % |

Aufbewahrung des Darmsaftes bei niedrigeren Temperaturen zwischen 4°C und 37°C verlangsamt die Spontaninaktivierung deutlich. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind aus Tabelle 3 und 4 sowie aus Abb.6 zu entnehmen. Sie sind nach Inkubationstemperatur, Inkubations-pH und Inkubationsdauer aufgeschlüsselt. Es fanden sich auffallend große individuelle Unterschiede der Spontaninaktivierung. Während bei einem Teil der Fälle z.B. bei 37°C bereits ein vollständiger Aktivitätsverlust nach 4 Stunden eingetreten war, lie-

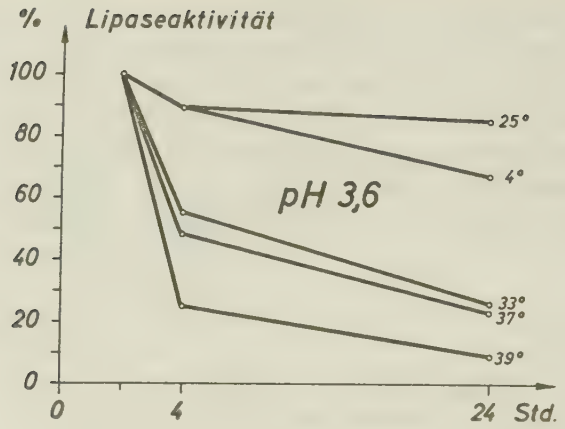



Abb. 6 : Aktivitätsverlust der Pankreaslipase bei verschiedenen Temperaturen (pH 3,6).
Aktivitätsangaben in % der Ausgangsaktivität.

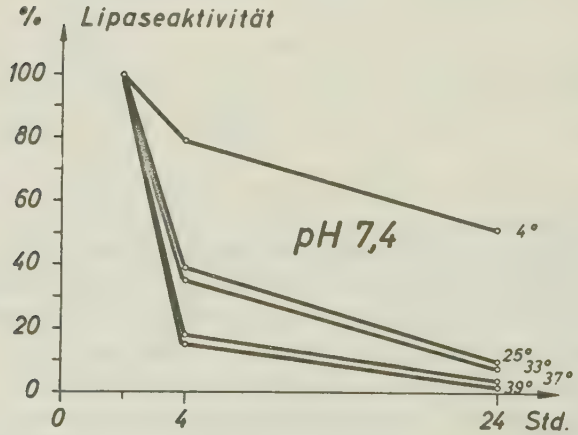



Abb. 7 : Aktivitätsverlust der Pankreaslipase bei verschiedenen Temperaturen (pH 7,4).
Aktivitätsangaben in % der Ausgangsaktivität.

ßen sich bei anderen Fällen noch über 60% der Ausgangsaktivität unter gleichen Bedingungen nachweisen.
Bei Eisschranktemperaturen (+ 4°C) verlief die Inaktivierung noch langsamer. Bei pH 3,6 war der Aktivitätsverlust bei + 4°C nur gering und im Mittel unter 10%. Auch nach 24 Stunden waren noch um 70% der Ausgangsaktivitäten (pH 3,6) nachzuweisen. Auffallend war der Befund einer zeitabhängigen Aktivitätssteigerung der Lipase bei Aufbewahrung des Duodenalsaftes bei 25°C und saurem pH in einem Teil der Fälle. Die Mittelwerte der Enzymaktivität nach 24 Stunden bei 25°C sind höher als bei + 4°C. Inwieweit dieses Verhalten auf frei gewordene Aktivatoren oder Abbau von Inhibitoren zurückgeführt werden kann, muß vorerst dahin gestellt bleiben. Für die Lipase sind ähnliche Aktivierungen wie bei Trypsinogen bisher nicht bekannt geworden.

T a b e l l e 3

Spontaninaktivierung der Pankreaslipase des Darmsaftes nach 4 und 24 Stunden bei verschiedenen Temperaturen (pH 7,4)
Angaben in % der Ausgangsaktivität

| Inkubationszeit | Inkubationstemperatur | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 4°C | 25°C | 33°C | 37°C | 39°C |
| 4 Stunden | 94 % | 77 % | 62 % | 55 % | 54 % |
| | 83 % | 59 % | 49 % | 14 % | 13 % |
| | 79 % | 28 % | 28 % | 12 % | 11 % |
| | 72 % | 19 % | 24 % | 9 % | 0 % |
| | 69 % | 15 % | 16 % | 0 % | 0 % |
| 24 Stunden | 74 % | 34 % | 38 % | 17 % | 10 % |
| | 63 % | 16 % | 3 % | 3 % | 2 % |
| | 53 % | 2 % | 1 % | 2 % | 0 % |
| | 46 % | 1 % | 0 % | 0 % | 0 % |
| | 19 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % |

T a b e l l e 4

Spontaninaktivierung der Pankreaslipase des Darmsaftes nach 4 und 24 Stunden bei verschiedenen Temperaturen (pH 3,6)
Angaben in % der Ausgangsaktivität

| Inkubationszeit | Inkubationstemperatur | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 4°C | 25°C | 33°C | 37°C | 39°C |
| | 111% | 102 % | 83 % | 85 % | 63 % |
| | 94% | 98 % | 69 % | 68 % | 35 % |
| 4 Stunden | 88% | 92 % | 68 % | 35 % | 22 % |
| | 84% | 83 % | 46 % | 27 % | 6 % |
| | 70% | 74 % | 11 % | 9 % | 1 % |
| | 92% | 103 % | 76 % | 60 % | 46 % |
| | 77% | 95 % | 39 % | 46 % | 2 % |
| 24 Stunden | 61% | 89 % | 8 % | 8 % | 0 % |
| | 63% | 76 % | 7 % | 4 % | 0 % |
| | 46% | 62 % | 2 % | 0 % | 0 % |

## D I S K U S S I O N

Die Lipase gehört in die Gruppe der Esterasen. Sie spaltet Ester langkettiger Fettsäuren mit einwertigen und mehrwertigen Alkoholen und ist u.a. dadurch ausgezeichnet, daß sie im Gegensatz zu anderen Esterasen durch Gallensäuren aktiviert wird. Sie kommt im menschlichen Körper fast ausschließlich im Pankreas vor. SELIGMAN und NACHLAS (10) haben nachgewiesen, daß die Naphthylester verschiedener Fettsäuren relativ spezifische Substrate für die Lipase sind und daß die Spezifität durch Zusatz von Gallensäuren noch erhöht werden kann.

Mit der beschriebenen eigenen Methode, die sich weitgehend an diese Angaben anlehnt, wird demnach spezifisch Lipase erfaßt. Es hat sich unter Zusatz von Na-Cholat eine deutliche Aktivierung ergeben, wobei der in der Originalvorschrift angegebene Zusatz von 0,5 ml 20%iges Na-Cholat allerdings keine optimale Aktivierung bewirkt. Maximale Fermentaktivität erfordert höhere Na-Cholatmengen. Es empfiehlt sich, die Methode dahingehend abzuwandeln, daß 0,8 ml 20%iges Na-Cholat in 5 ml Ansatz Verwendung finden. Nach den Befunden über das pH-Optimum ist es außerdem richtiger, die Enzymbestimmungen nicht im schwach alkalischen (pH 7,4), sondern im schwach sauren (pH 6,0 bis 6,5) vorzunehmen. Da Substratsättigung unterstellt werden kann, sind, wenn man bei 25°C inkubiert, die Forderungen der International Union of Biochemistry (Commission of Enzymes) erfüllt, um die Aktivität in Internationalen Einheiten (International Units = = I.U.) auszudrücken.

Die Internationale Enzymeinheit ist definiert als diejenige Enzymmenge, die die Umwandlung von einem µ-Mol Substrat pro Minute bei 25°C, optimaler Substratsättigung, optimaler Aktivierung und gemessen im pH-Optimum bewirkt.

Unter Berücksichtigung des Molekulargewichtes von 144 für ß-Naphthol und unter zu Grundelegen des Gesagten, berechnen sich die Internationalen Einheiten pro ml Darmsaft wie folgt:

$$\text{I.U./ml (Darmsaft)} = \frac{\text{mg (ß-Naphthol)}}{30 \cdot 144}$$

$$\text{I.U./ml (Darmsaft)} = \text{mg ß-Naphthol} \times 2{,}31$$

Über die bekannten Befunde eines aktivierenden Einflußes der Gallensäuren hinaus, zeigten die Untersuchungen, daß auch Nahrungsbestandteile, wie Albumin, die Fermentaktivität zu beeinflußen vermögen. Humanalbumin bewirkte bereits in Konzentrationen unter 0,5% ($0{,}5 \times 10^{-4}$ mol) einen deutlichen Aktivierungseffekt. Es aktiviert demnach bereits in Mengen, die in der Nahrung durchaus erreicht werden können. Die Albuminwirkung scheint unter den gewählten Versuchsbedingungen an die Anwesenheit von Gallensäuren gebunden zu sein. Zumindest ließen sich Aktivitätssteigerungen in verdünntem Duodenalsaft allein in Anwesenheit von Albuminkonzentrationen bis 4% nicht nachweisen. Welche Mechanismen für die Albuminwirkung verantwortlich sind, muß zunächst noch offen bleiben. DINELLA, MENG und PARK (5) haben in tierischen Pankreashomogenaten ähnliche Befunde beschrieben, jedoch ohne eine nähere Erklärung zu geben. Unwahrscheinlich ist ein alleiniger, stabilisierender Kolloideffekt. Es konnte weder durch $\gamma$ - Globulin (Molekulargewicht um 200000) noch durch Periston (Molekulargewicht um 30000 ) eine Enzymaktivierung erzielt werden.
Unabhängig von der noch offenen Deutung des zugrundeliegenden Aktivierungsmechanismus dürften sich aber praktische Folgerungen aus der Möglichkeit ergeben, durch Anreicherung der Nahrung mit enzymaktivitäts-

fördernden Stoffen die Lipolyse im Darmlumen zu steigern. Es erscheint untersuchungswert nachzuprüfen, inwieweit hiermit bei Pankreasinsuffizienz therapeutische Erfolge zu erzielen sind. Denkbar wäre es, daß durch bessere Ausnützung der sezernierten Lipase die übliche Substitutionstherapie mit Fermentpräparaten erweitert werden kann. Eine zusätzliche Lipaseaktivierung erscheint im besonderen auch deswegen indiziert, da gerade das fettspaltende Ferment bei Schädigungen des Pankreas frühzeitig in Mitleidenschaft gezogen wird und besondere Instabilität zeigt.

Die Ergebnisse bei den Untersuchungen der Spontaninaktivierung lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Enzymstabilität ist weitgehend temeraturabhängig.
2. Es besteht eine deutliche Abhängigkeit der Lipasestabilität vom pH.
3. Saures Magensekret hat auf die Inaktivierung der Lipase bis zu einem pH von 3,6 keinen meßbaren Einfluß.

Es muß damit gerechnet werden, daß ins Darmlumen sezernierte Lipase, d.h. in ein Milieu von schwach saurem pH und etwa 37° C, einen großen Teil seiner Aktivität innerhalb weniger Stunden verliert. Die Geschwindigkeit des Aktivitätsverlustes hat aber offensichtlich eine große individuelle Streubreite. Bei Fällen mit großer Enzymstabilität, ist es denkbar, daß trotz ausreichender Pankreassekretion Verdauungsinsuffizienzen durch vorzeitige Inaktivierung auftreten. Die Uraachen der Instabilität sind zunächst noch unklar. Aus den erhobenen Befunden können nur gewisse Hinweise abgeleitet werden. Die naheliegende Vermutung, daß durch saures Magensekret

die Fermentaktivität beeinträchtigt wird, kann weitgehend ausgeschlossen werden. Die Stabilität des Fermentes ist im sauren Bereich deutlich größer und orientierende Messungen durch Zusatz von Pepsin haben keine schnellere Inaktivierung ergeben.

Die Unterschiede in den Inaktivierungsraten unter Eisschrankbedingungen (+ 4°C) und physiologischen Temperaturen (um 37°C) wie sie im Duodenum bestehen, machen deutlich, daß aus in vitro-Messungen nur bedingt Hinweise auf das Stabilitätsverhalten von Fermenten im Darm möglich sind. Will man vergleichbare Befunde erhalten, ist es demnach erforderlich, die in vivo-Bedingungen weitgehend nachzuahmen. Zur Beurteilung der individuellen Lipasestabilität empfiehlt sich die Aktivitätsminderung nach 4 Stunden bei 37°C sowohl im sauren (pH 3,6) wie im alkalischen (pH 7,4) Bereich zu untersuchen. Größere Untersuchungsreihen sind erforderlich, um die klinische Bedeutung der Lipasestabilität für die Pathogenese von Verdauungsstörungen näher zu erfassen.

## Zusammenfassung

Die Ergebnisse der Lipaseaktivierung und -inaktivierung im Duodenalsekret werden mitgeteilt.

In enzymkinetischen Messungen konnten lineare Beziehungen zwischen Enzymmenge, Inkubationszeit und Enzymaktivität nachgewiesen werden.

Das pH Optimum des Fermentes im Duodenalsekret wurde mit pH 6,0 bestimmt.

Die Cholataktivierung erwies sich bis um 6 % konzentrationsabhängig.

Verbesserungsvorschläge der Methode werden gegeben.

Die Pankreaslipase im Darmsaft ist durch Humanalbumin bis auf 600 % zu aktivieren. γ-Globulin aktiviert nicht. Auch andere relativ großmolekulare Verbindungen wie z.B. Periston (Molekulargewicht 30000) waren ohne Effekt.

Duodenalsaftlipase erwies sich als relativ labiles Ferment.

Die Spontan- und Hitzeinaktivierung ist pH- und temperaturabhängig.

Es bestehen unter identischen Versuchsbedingungen große individuelle Unterschiede.

Bedeutung der Ergebnisse und Befunde für Pathogenese und Therapie von Verdauungskrankheiten werden diskutiert.

L I T E R A T U R

1) Archibald, R.M., Ortiz, P. : Determination of Lipase activity
Journ. Biol. Chem. 165,443 (1946)

2) Bang, H.O. : Asimple method for Dtermination of Lipase (estrase) in pankreatic juic.
Scand. Journ. Clin.Lab.Invest. 17, 25 (1965)

3) Borgström, B. : Determination of pancreatic Lipase in human intestinal content.
Scand. Journ. Clin.Lab.Invest. 9, 226 (1957)

4) Borgström, B. : Pancreatic Lipase. Europ.Pankreas Symposion 1963 Erlangen. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart.

5) DiNella, R.R., Meng, H. C., Park, C. R. : Properties of Intestinal Lipase.
Journ. Biol. Chem. 235, 3076 (1960)

6) Fritz, P. J., Melius, P. : Mechanism of Activation of Hog Pancreatic Lipase by Sodium Taurocholate.
Canad. J. Biochem. : 41, 719 (1963)

7) Henning, N., Berg, G., Heinkel, K., Schön, H., Zeitler, G., Wolf, F. : Agastrische Dystrophie.
Dtsch. Med. Wschr. 86, 710 (1961)

8) Kramer, St. P., Aronson, L. D., Rosenfeld, M. G., Sulkin, M. D., Chang, A., Seligman, A. M. : Human Pancreatic Lipase Study with Bile Salt Activation and Substrates from a Homologous Series of Naphtyl Alkanoates. Arch. Biochem. Biophys. 1o2, 1 (1963)

9) Leuthardt, F. : Lehrbuch der Physiol. Chemie 12 Aufl. 1955

10) Nachlas, M. M., Seligman, A. M. : Evidence for the Specificity of Esterase and Lipase by the Use of Three Chromogenic Substrates.
J. Biol. Chem. 181, 343 (1949)

11) Ravin, H., Seligman A. M. : Determinants for the Specificity of Action of Pancreatic Lipase.
Arch. Biochem. Biophys. 137, 42 (1953)

12) Schön, H., Rässler, B., Henning, N. : Über die Untersuchung der Exkretorischen Pankreasfunktion. Klin. Wschr. 39, 217 (1961)

13) Schön, H., Henning, N. : Pathogenese, Diagnostik, Klinik und Therapie der Erkrankungen des Exokrinen Pankreas. Schattauer Verlag Stuttgart (1964)

14) Wills, E. D. : The Effect of anionic detergents and some related compounds on enzymes Biochem. Journal 57, 109 (1954).

# L E B E N S L A U F

von Nikolas Chaitoglou

Ich wurde in Thessaloniki/Grichenland am 22.5.38 geboren.
Mit 6 Jahren habe ich die Volksschule besucht und nach
6 Jahren wurde an dem priv. Gymnasium Aristoteles auf-
genommen. Nach erfolgreichem Studium habe ich mein Abitur
im Alter von 18 Jahren bestanden.
Anschließend habe ich mich an das Goethe Institut in Thes-
saloniki gewendet, wo ich die Deutsche Sprache gelernt habe.
Mein Studium der Medizin habe an der Universität
Heidlberg im Sommer-Semester 1958 angefangen.
Ich mußte aber wegen Platzmangel bei den Chemischen Übungen
die Universität wechseln. Im Winter Semester 1958/1959 habe
ich mich an der Universität Erlangen-Nürnberg immatrikuliert.
Im Sommer Semester 1959 legte ich den Naturwissenschaftlichen
Teil der Prüfung mit Erfolg ab.
Nach 3 Semestern bestand ich auch das Physikum. Nach 6 Semestern,
am 4.9.64 legte ich mein med. Staatsexamen vor dem Prüfungs-
ausschuß der Universität Erlangen-Nürnberg mit Erfolg ab.
Zur Zeit bin ich im Städtischen Krankenhaus Forchheim als med.
Assistent tätig.

N. Chaitoglou.

Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5